

Ocena stężenia łożyskowego czynnika wzrostu (PlGF) oraz naczyniowego czynnika wzrostu (VEGF) w surowicy krwi ciężarnych z preeklampsją

Maternal serum concentration of placental growth factor (PlGF) and endothelial growth factor (VEGF) in pregnancies complicated by preeclampsia

Semczuk-Sikora Anna, Krzyżanowski Arkadiusz, Kwiatek Maciej, Semczuk Marian

Klinika Położnictwa i Patologii Ciąży AM im F. Skubiszewskiego w Lublinie

Streszczenie

Preeklampsja stanowi częste i groźne powikłanie ciąży. W przebiegu tej patologii dochodzi m.in. do niedostatecznej przebudowy tętnic spiralnych. Upośledza to przepływ krwi i doprowadza do niedotlenienia, co z kolei powoduje zaburzenia funkcji komórek śródbłonna naczyń. Naczyniowy czynnik wzrostu (VEGF) oraz łożyskowy czynnik wzrostu (PlGF) spełniają ważną rolę w procesie angiogenezy i dlatego mogą brać udział w etiopatogenezie preeklampsji.

Cel pracy: Celem pracy była ocena stężenia PlGF i VEGF w surowicy krwi pacjentek z preeklampsją.

Materiał i metody: Badaniami objęto 25 ciężarnych z preeklampsją oraz 18 pacjentek z ciążą prawidłową, które stanowiły grupę kontrolną. U wszystkich pacjentek z grupy badanej stężenia PlGF oraz VEGF oznaczano w III trymestrze, a u 7 z nich dodatkowo w II trymestrze ciąży. W grupie kontrolnej stężenia tych parametrów oznaczano w obu okresach. Badania wykonywano metodą ELISA przy użyciu komercyjnego zestawu.

Wyniki: Wartości mediany stężeń PlGF oznaczane zarówno w II, jak i III trymestrze ciąży były statystycznie istotnie ($p < 0,001$) niższe u pacjentek z preeklampsją w porównaniu do zdrowych ciężarnych i wynosiły odpowiednio: 17,4 vs. 290,3 pg/ml oraz 99,1 vs. 347,8 pg/ml.

U większości badanych kobiet poziomy VEGF w surowicy krwi były nieoznaczalne.

Wnioski: 1. PlGF jest czynnikiem biorącym udział w patomechanizmie preeklampsji a jego stężenie w surowicy ciąży obniża się istotnie w przebiegu tej patologii.

2. Niedostateczna czułość komercyjnego zestawu ELISA uniemożliwia badanie tym testem zachowania się VEGF w surowicy kobiet z preeklampsją.

Słowa kluczowe: **PlGF / VEGF / preeklampsja / ciąża / krew /**

Adres do korespondencji:

Anna Semczuk-Sikora
Katedra i Klinika Położnictwa i Patologii Ciąży AM w Lublinie
20-081 Lublin, ul. Staszica 16
e-mail: annsemcz@poczta.onet.pl

Otrzymano: **20.07.2007**

Zaakceptowano do druku: **10.10.2007**

Abstract

Preeclampsia is one of the most frequent and dangerous complications of a pregnancy. In preeclamptic pregnancies the spiral arteries are not modified properly. Disturbed blood flow finally leads to hypoxia which is responsible for the dysfunction of the endothelium. Endothelial growth factor (VEGF) and placental growth factor (PIGF) play an important role in the angiogenesis and thus may participate in the pathomechanism of preeclampsia.

Aim: The aim of our study was to estimate VEGF and PIGF level in serum of patients with preeclampsia.

Materials and methods: The study comprised 25 gravidas with preeclampsia and a control group of 18 healthy gravidas. In 25 preeclamptic women the angiogenic factors levels were measured in the III trimester and in 7 of them in the II trimester. In the control group these parameters were assessed in both periods. Both factors were measured by commercial available ELISA KIT.

Results: PIGF concentrations were significantly ($p < 0,001$) lower in sera of patients with preeclampsia in the II and III trimester in comparison to the controls: 17,4 vs. 290,3pg/ml and 99,1 vs. 347,8pg/ml, respectively.

In most cases serum VEGF levels were undetectable.

Conclusions: 1. PIGF is involved in the pathomechanism of preeclampsia and its maternal serum concentration decreases significantly in the course of the disease.

2. The sensitivity of the commercially available ELISA assay is too low to assess the serum VEGF concentration in women with preeclampsia.

Key words: **PIGF / VEGF / preeclampsia / pregnancy / blood /**

Wstęp

Nadciśnienie tętnicze, które występuje po 20 tygodniu trwania ciąży dotyczy od 7-10% ciężarnych. Związane jest z większym prawdopodobieństwem powikłań jak również ryzykiem zgonu zarówno dla matki jak i dla dziecka [1].

Nie do końca poznana jest przyczyna powstawania pre-eklampsji. Uważa się, że główną rolę w powstawaniu tej patologii odgrywa łożysko, a szczególnie nabłonek naczyń łożyskowych.

U podstaw rozwoju stanu przedrzucawkowego leży nieprawidłowa inwazja trofoblastu w tętnice spiralne mięśnia macicy. W ciąży fizjologicznej dochodzi do przebudowy tętnic spiralnych, tak aby mogły dostosować się do znacznie zwiększonego przepływu krwi przez mięsień macicy w okresie ciąży. W ciążach powikłanych pre-eklampsją dochodzi do niedostatecznej przebudowy tętnic spiralnych a nawet do pogrubienia ściany naczynia, co w konsekwencji upośledza przepływ krwi i doprowadza do niedotlenienia. Niedotlenienie z kolei powoduje zaburzenia funkcji komórek śródbłonna naczyń [2].

Naczyniowy czynnik wzrostu (VEGF – *vascular endothelial growth factor*) oraz łożyskowy czynnik wzrostu (PIGF – *placental growth factor*) spełniają ważną rolę w procesie angiogenezy, który jest podstawą dla prawidłowego rozwoju narządów i tkanek [3]. Wraz z innymi czynnikami wzrostowymi jak FGF (czynnik wzrostu fibroblastów), EGF (nabłonkowy czynnik wzrostu), TNF- α (czynnik martwicy guza) i wiele innych, wpływają na proliferację komórek śródbłonna, zwiększają przepuszczalność naczyń i stymulują rozpad macierzy zewnątrzkomórkowej. PIGF syntetyzowany jest jedynie w trofoblaście, podczas gdy VEGF powstaje w wielu narządach [4].

W ostatnich latach sugeruje się, że oba czynniki naczyniowe mogą być wykorzystane jako biochemiczne markery funkcji łożyska podczas pre-eklampsji.

Cel pracy

Celem pracy była ocena stężenia naczyniowego czynnika wzrostu oraz łożyskowego czynnika wzrostu w surowicy krwi pacjentek z pre-eklampsją.

Materiał i metody

Badaniami objęto 25 pacjentek z ciążą powikłaną pre-eklampsją oraz 18 pacjentek z ciążą o prawidłowym przebiegu, które stanowiły grupę kontrolną.

Średnia wieku kobiet w grupie badanej i kontrolnej nie różniła się istotnie statystycznie i wynosiła odpowiednio – $28,9 \pm 6,4$ lat oraz $27,6 \pm 4,4$ lat. W pierwszej ciąży było 13 (52%) pacjentek z grupy badanej i 10 (55%) kobiet z grupy kontrolnej. Pacjentki kwalifikowano do badań w momencie rozpoznania pre-eklampsji. Spełniały one kryteria przyjęte przez Europejskie Towarzystwo Nadciśnienia Tętniczego oraz Europejskie Towarzystwo Kardiologiczne z 2003 roku [5].

U wszystkich pacjentek z grupy badanej stężenia ocenianych czynników angiogennych w surowicy krwi oznaczano pomiędzy 30 a 38 tygodniem ciąży, a u 7 z nich dodatkowo pomiędzy 20 a 25 tygodniem ciąży.

W grupie kontrolnej stężenia czynników angiogennych oznaczano dwukrotnie tj. pomiędzy 20 a 24 oraz pomiędzy 30 a 38 tygodniem trwania ciąży.

Wolne postacie naczyniowych czynników wzrostu oznaczano metodą ELISA przy zastosowaniu zestawów odczynników firmy R@D Systems, Minneapolis, USA.

Analizę różnic statystycznych pomiędzy grupami wykonano przy użyciu testu nieparametrycznego Manna-Whitneya, ponieważ wartości zmiennych nie wykazywały rozkładu normalnego w teście Shapiro-Wilka.

Przyjęto wartość $p < 0,05$ za statystycznie istotną.

Wyniki

Stężenie PIGF w surowicy krwi pacjentek z preeklampsją i u zdrowych ciężarnych w II i III trymestrze ciąży przedstawiono w tabeli I.

Tabela I. Stężenie PIGF w surowicy krwi pacjentek z preeklampsją oraz u zdrowych ciężarnych w II i III trymestrze ciąży.

		Grupa badana n=25*	Grupa kontrolna n=18
PIGF pg/ml	II trymestr	17,39 (7,22-117,80)	290,33 (90,75-1160,32)
Mediana (zakres)	III trymestr	99,08 (9,21-1046,31)	347,75 (30,51-1152,43)

* badania w II trymestrze przeprowadzono u 7 pacjentek

Stężenie PIGF oznaczane zarówno w II jak i III trymestrze ciąży było statystycznie istotnie ($p < 0,001$) niższe w surowicy krwi pacjentek z preeklampsją w porównaniu do zdrowych ciężarnych.

U większości ciężarnych grupy badanej (>92%) i kontrolnej (>83%) poziomy VEGF w surowicy krwi były nieoznaczalne. Najniższy oznaczony poziom wynosił 6,57pg/ml.

Dyskusja

Ze względu na naczyniowe implikacje patomechanizmu preeklampsji udział krążących naczyniowych śródbłonkowych czynników wzrostu w tym procesie stał się przedmiotem wielu badań [2, 6-10].

Spośród wielu cytokin należących do tej grupy, główne zainteresowanie skupia się w ostatnich latach na roli VEGF (VEGF-A) oraz PIGF w patomechanizmie preeklampsji. W warunkach fizjologicznych oba czynniki odgrywają istotną rolę jako stymulatory prawidłowego rozwoju naczyń, w tym w szczególności komórek śródbłonkowych oraz wpływają na ich przepuszczalność. Ekspresję VEGF wykazano w wielu tkankach i narządach co świadczy o jego ogólnoustrojowej roli, natomiast PIGF ma raczej znaczenie lokalne, ograniczone do tkanki łożyskowej [4, 11].

W warunkach fizjologicznych stężenie PIGF w surowicy ciężarnej wzrasta w sposób charakterystyczny w pierwszych dwóch trymestrach ciąży osiągając maksimum pomiędzy 29 a 32 tygodniem, a następnie obniża się stopniowo do momentu porodu [6-9].

W ciążach powikłanych stanem przedrzucawkowym krzywa stężenia PIGF w surowicy przebiega podobnie, jednak od 13-16 tygodnia stężenia tego parametru są istotnie niższe w porównaniu do ciąż fizjologicznych. Dodatkowo wykazano, że obniżenie stężenia PIGF może wyprzedzać preeklampsję o 9-11 tygodni, jednak szczególnie niskie wartości odnotowano na 5 tygodni przed wystąpieniem nadciśnienia i białkomoczu [7, 8, 12, 13].

Uzyskane przez nas nieco wyższe wartości mediany (ale bez istotności statystycznej) stężenia PIGF w grupie kontrolnej w III trymestrze ciąży w porównaniu do II trymestru tylko

pozornie pozostają w sprzeczności z powyższymi obserwacjami. Wykonanie przez nas oznaczeń pomiędzy 30 a 38 tygodniem ciąży mogło bowiem nie wykazać fizjologicznej tendencji do obniżania się stężenia PIGF w późniejszym okresie III trymestru.

W pracy potwierdziliśmy natomiast udział PIGF w patomechanizmie preeklampsji, poprzez wykazanie statystycznie istotnego obniżenia się wartości tego parametru w II i III trymestrze ciąży w stosunku do odpowiednich wartości grupy kontrolnej.

W naszych badaniach nie mogliśmy dokonać porównań pomiędzy stężeniem wolnego VEGF w surowicy kobiet w stanie przedrzucawkowym a stężeniem tego parametru u zdrowych ciężarnych. Podobnie jak w obserwacjach innych autorów u znacznej części badanych kobiet wartości VEGF były poniżej limitu detekcji dla komercyjnego zestawu ELISA [7, 10, 14].

Jedynie wieloosrodkowe badanie amerykańskie udowodniło obniżony poziom tego czynnika u kobiet z preeklampsją, jednak jego zachowanie podczas ciąży nie było tak typowe jak w przypadku PIGF [8].

Na uwagę zasługują wyniki uzyskane przez Bieleckiego i wsp., które w odróżnieniu od powyższych obserwacji wskazywały na wzrost stężenia VEGF w surowicy krwi ciężarnych z preeklampsją. Autorzy jednak nie tłumaczą przyczyn tego zjawiska [15].

Wyjaśnienie obniżonego stężenia naczyniowych śródbłonkowych czynników wzrostu u kobiet z preeklampsją stało się możliwe po wyjaśnieniu roli rozpuszczalnej formy receptora sFlt-1 (*fms-like tyrosine kinase-1*) mającego zdolność wiązania zarówno VEGF jak i PIGF [16].

Jak wykazały te i inne badania, stan niedotlenienia wywołany nieprawidłową placentacją i poprzedzający preeklampsję, prowadzić może do nadprodukcji tego receptora przez komórki trofoblastu i następowego nadmiernego wiązania angiogennych czynników wzrostu w krążeniu [3].

Silniejszym powinowactwem receptora sFlt-1 do VEGF tłumaczy się tak niskie stężenia tego ostatniego parametru u kobiet w stanie przedrzucawkowym, znacznie utrudniające jego pomiar [7, 10, 14].

Zarówno podwyższone stężenia rozpuszczalnego receptora sFlt-1 jak i obniżone stężenia PIGF oraz VEGF uważane są za kluczowe w wywoływaniu objawów stanu przedrzucawkowego, takich jak nadciśnienie tętnicze oraz uszkodzenie kłębuszków nerkowych prowadzące do białkomoczu [2, 8].

Problem identyfikacji ciężarnych o wysokim ryzyku wystąpienia preeklampsji ma duże znaczenie dla poprawy wyników położniczych w tej grupie.

Dlatego też tak ważne jest prowadzenie badań nad angiogennymi czynnikami wzrostu i ich receptorem, jako potencjalnymi markerami wystąpienia stanu przedrzucawkowego. W chwili obecnej jako najbardziej obiecujące wydaje się monitorowanie stężenia PIGF oraz sFlt-1 w surowicy wybranych ciężarnych [8].

Przyszłość pokaże, czy podawanie VEGF jako leku znajdzie praktyczne zastosowanie terapeutyczne u kobiet z preeklampsją.

Wnioski

1. PIGF jest czynnikiem biorącym udział w patomechanizmie preeklampsji a jego stężenie w surowicy ciężarnej obniża się istotnie w przebiegu tej patologii.
2. Niedostateczna czułość komercyjnego zestawu ELISA uniemożliwia badanie tym testem zachowania się VEGF w surowicy kobiet z preeklampsją.

Praca finansowana ze środków Komitetu Badań Naukowych nr grantu KBN Grant: 2P05E11827.

Praca zgłoszona na Kongres „Nowoczesne postępowanie w perinatologii i ginekologii” – 14-16.09.2007 r. – Wista

Piśmiennictwo

1. Sibai B. Hypertension in pregnancy. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 1992, 19, 615-632.
2. Lam C, Lim K, Karumanchi A. Circulating angiogenic factors in the pathogenesis and prediction of preeclampsia. *Hypertension.* 2005, 46, 1077-1085.
3. Ahmed A, Dunk C, Ahmad S, [et al.]. Regulation of placental vascular endothelial growth factor (VEGF) and placenta growth factor (PlGF) and soluble Flt-1 by oxygen-a review. *Placenta.* 2000, 21, 14, S16-S24.
4. Shore V, Wang T, Wang C, [et al.]. Vascular endothelial growth factor, placenta growth factor and their receptors in isolated human trophoblast. *Placenta.* 1997, 18, 657-665.
5. European Society of Hypertension. European Society of Cardiology guidelines for the management of arterial hypertension. *J Hypertens.* 2003, 21, 1011-1053.
6. Torry D, Wang H, Wang T, [et al.]. Preeclampsia is associated with reduced serum levels of placenta growth factor. *Am J Obstet Gynecol.* 1998, 179, 1539-1544.
7. Taylor R, Grimwood J, Taylor R, [et al.]. Longitudinal serum concentrations of placental growth factor: evidence for abnormal placental angiogenesis in pathologic pregnancies. *Am J Obstet Gynecol.* 2003, 188, 177-182.
8. Levine R, Maynard S, Qian C, [et al.]. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med.* 2004, 350, 672-683.
9. Krauss T, Pauer H, Augustin H. Prospective analysis of placenta growth factor (PlGF) concentrations in the plasma of women with normal pregnancy and pregnancies complicated by preeclampsia. *Hypertens pregnancy.* 2004, 23, 101-111.
10. Crispi F, Dominguez C, Llorca E, [et al.]. Placental angiogenic growth factors and uterine artery Doppler findings for characterization of different subsets in preeclampsia and in isolated intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol.* 2006, 195, 201-207.
11. Nagy J, Dvorak M, Dvorak F. VEGF-A(164/165) and PlGF roles in angiogenesis and arteriogenesis. *Trends Cardiovasc Med.* 2003, 13, 169-175.
12. Su Y, Lee C, Cheng W, [et al.]. Decreased maternal serum placenta growth factor in early second trimester in preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 2001, 97, 898-904.
13. Tidwell C, Ho H, Chiu W, [et al.]. Low maternal serum levels of placenta growth factor as an antecedent of clinical preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2001, 184, 1267-1272.
14. Thadhani R, Mutter W, Wolf M, [et al.]. First trimester placental growth factor and soluble fms-like tyrosine kinase 1 and risk for preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004, 89, 770-775.
15. Bielecki D, Klonowska-Dziatkiewicz E, Jarocki S, [i wsp.]. Niektóre czynniki wzrostu w ciąży powikłanej preeklampsją. *Ginekol Pol.* 2002, 73, 422-429.
16. Maynard S, Min J, Merchan J, [et al.]. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest.* 2003, 111, 649-658.

IV Krajowa Konferencja Szkoleniowa

Ginekologia i położnictwo 2007

30.XI - 1.XII 2007

Kraków

Nowohuckie Centrum Kultury
al. Jana Pawła II, 232

Przewodniczący Komitetu Organizacyjnego

prof. Jan Kotarski

Organizator

Medycyna Praktyczna

Akredytacja

Polskie Towarzystwo Ginekologiczne

Program:

- Małoinwazyjne metody leczenia mięśniaków
prof. Jan Kotarski (Akademia Medyczna, Lublin)
- Rola histerektomii przezpochwowej
prof. Tomasz Rechberger (Akademia Medyczna, Lublin)
- Endometrioza – skuteczność leczenia
prof. Stefan Sajdak (Uniwersytet Medyczny, Poznań)
- Choroby tarczycy u kobiet w ciąży
prof. Barbara Jarzab Śląska Akademia Medyczna, Katowice)
- Zakażenia dróg moczowych u kobiet w ciąży
prof. Jan Duława (Śląska Akademia Medyczna, Katowice)
- Choroby z autoagresji u kobiet w ciąży
dr Mamert Milewski (Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków)
- Przebieg i leczenie ostrych stanów chirurgicznych u kobiet w ciąży
prof. Adam Dzik (Uniwersytet Medyczny, Łódź)
- Nadcisnienie tętnicze u kobiet w ciąży – czy można uniknąć rzucawki?
prof. Bożena Leszczyńska-Gorzelak (Akademia Medyczna, Lublin)
- Postępowanie w przypadku ciąży wielopłodowej
prof. Witold Malinowski (Pomorska Akademia Medyczna, Szczecin)
- Przydatność metod monitorowania śródporodowego płodu
prof. Jerzy Sikora (Śląska Akademia Medyczna, Katowice)
- Postępowanie w przypadku nieprawidłowego wyniku badania cytologicznego
dr hab. Ewa Nowak-Markwitz (Uniwersytet Medyczny, Poznań)
- Zakażenia dróg rodnych
prof. Piotr Heczko (Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków)
- Brak mieszkiczki – algorytm postępowania
prof. Leszek Pawełczyk (Uniwersytet Medyczny, Poznań)
- Przydatność testów diagnostycznych w endokrynologii ginekologicznej
prof. Piotr Skalba (Śląska Akademia Medyczna, Katowice)
- Tajemnica lekarska
sędzia Mariusz Żelichowski
- Sesja poświęcona zespołowi Downa

W piątek po wykładach zapraszamy na spektakl teatru „Bagatela”

Koszt uczestnictwa:

240 zł – dla aktualnych prenumeratorów
„Medycyny Praktycznej – Ginekologii i Położnictwa”

290 zł – dla pozostałych osób

300 zł – specjalny pakiet: udział w konferencji + roczna prenumerata
„Medycyny Praktycznej – Ginekologii i Położnictwa”

Oплата obejmuje: udział w obradach, materiały zjazdowe, wstęp na stoiska
wystawowe, lunch, spektakl teatralny.

Zgłoszenia:

**Medycyna Praktyczna
Dział Szkoleń**

ul. Krakowska 41, 31-066 Kraków

tel.: (012) 293 40 04

fax: (012) 293 40 10

e-mail: szkolenia@mp.pl

<http://szkolenia.mp.pl>